

FACULTÉ DE MÉDECINE ET DE PHARMACIE DE LYON

Année Scolaire 1931 - 1932 - N° 40

Travail du Laboratoire de Bactériologie
et de Médecine Expérimentale et Comparée

Essai sur une Technique de Sérothérapie Antityphique

*Pouvoir antigénique des Lysats de bacilles d'Eberth
obtenus par Bactériophagie*

THÈSE

PRÉSENTÉE

à la FACULTE de MEDECINE et de PHARMACIE DE LYON

et soutenue publiquement le 23 Novembre 1931

POUR OBTENIR LE GRADE DE DOCTEUR EN MEDECINE

PAR

Albert NABONNE

Diplômé de Bactériologie

Elève de l'Ecole du Service de Santé Militaire de Lyon

Né le 6 Avril 1908, à Eauze (Gers)



IMPRIMERIE INTERSYNDICALE
LYONNAISE

46, Rue de l'Université, 46

LYON

1931

ESSAI SUR UNE TECHNIQUE
DE
SÉROTHÉRAPIE ANTITYPHIQUE



Digitized by the Internet Archive
in 2026

FACULTÉ DE MÉDECINE ET DE PHARMACIE DE LYON

Année Scolaire 1931 - 1932 — N° 40

Travail du Laboratoire de Bactériologie
et de Médecine Expérimentale et Comparée

Essai sur une Technique de Sérothérapie Antityphique

*Pouvoir antigénique des Lysats de bacilles d'Eberth
obtenus par Bactériophagie*

THÈSE

PRÉSENTÉE

à la FACULTE de MEDECINE et de PHARMACIE DE LYON

et soutenue publiquement le 23 Novembre 1931

POUR OBTENIR LE GRADE DE DOCTEUR EN MEDECINE

PAR

Albert NABONNE

Diplômé de Bactériologie

Elève de l'Ecole du Service de Santé Militaire de Lyon

Né le 6 Avril 1908, à Eauze (Gers)



IMPRIMERIE INTERSYNDICALE

LYONNAISE

46, Rue de l'Université, 46

LYON

1931

PERSONNEL DE LA FACULTE

Doyen honoraire	M. L. HUGOUNENQ.
Doyen	M. J. LEPINE.
Assesseur	M. ROLLET.

PROFESSEURS HONORAIRES

MM. CAZENEUVE, ROQUE, LANNOIS, HUGOUNENQ, ROCHET, BARRAL

PROFESSEURS

Cliniques médicales	MM. PIC.
Cliniques chirurgicales.	PAVIOT
Clinique obstétricale et Accouchements	TIXIER
Clinique ophtalmologique.	BERARD
Clinique des maladies cutanées et syphilitiques	VORON
Clinique neurologique et psychiatrique.....	ROLLET
Clinique des maladies des enfants	NICOLAS
Clinique des maladies des femmes	LEPINE (J.)
Clinique d'oto-rhino-laryngologie	MOURICQUAND.
Clinique des maladies des voies urinaires.....	VILLARD
Clinique chirurgicale, infantile et orthopédie	COLLET
Clinique et prophylaxie de la tuberculose	GAYET
Physique biologique, Radiologie et Physiothérapie.....	NOVE-JOSSERAND
Chimie biologique et médicale	COURMONT.
Chimie organique et Toxicologie	CLUZET
Matière médicale et Botanique	FLORENCE
Parasitologie et Histoire naturelle médicale	MOREL
Anatomie	MANCEAU.
Histologie	GUIART
Physiologie	LATARJET
Pathologie externe	POLICARD
Pathologie interne	DOYON
Pathologie et Thérapeutiques générales	LERICHE.
Anatomie pathologique	FROMENT
Chirurgie opératoire	CADE
Médecine expérimentale et comparée, et bactériologie	FAVRE
Médecine légale	PATEL
Hygiène	ARLOING (F.)
Thérapeutique	Etienne MARTIN
Pharmacie et Pharmacologie	X
Hydrologie thérapeutique et climatologie	SAVY
	LEULIER
	PIERY

PROFESSEUR TITULAIRE SANS CHAIRE

Chargé d'un cours de Propédeutique de gynécologie M. CONDAMIN

CHARGES DE COURS COMPLEMENTAIRES

Anatomie topographique	MM. THEVENOT (Léon)
Puériculture et hygiène de la première enfance	RHENTER
Chirurgie expérimentale	TAVERNIER
Applications du radium	NOGIER
Stomatologie	TELLIER

AGREGES

MM.	MM.	MM.	MM.
NOGIER	CHALIER (Joseph)	ROCHET (Ph.)	CHAMBON
ROCHAIX	NOEL	WERTHEIMER	CIBERT
RHENTER	DUMAS	GATE	EPARVIER
MAZEL	DUFOURT	BERNHEIM	GUILLEMINET
SANTY	DEVIC	DECHAUME	MORENAS
CHALIER (André)	GABRIELLE	POLLOSSON	REBATTU Ch.
	MARTIN (J.)		

EXAMINATEURS DE LA THESE :

MM. ARLOING, *Président* ; THÉVENOT Lucien, *Assesseur*

MM. DUFOURT et MORENAS, *Agrégés*

La Faculté de médecine de Lyon déclare que les opinions émises dans les dissertations qui lui sont présentées doivent être considérées comme propres à leurs auteurs, et qu'elle n'entend leur donner ni approbation ni improbation.



AUX MIENS ET A MES AMIS

A MON MAÎTRE ET PRÉSIDENT DE THÈSE
MONSIEUR LE PROFESSEUR FERNAND ARLOING

Il fut notre premier Maître.

Qu'il veuille bien accepter ici nos remerciements les plus sincères et l'hommage de notre reconnaissance, après deux années de travail dans son laboratoire où le meilleur accueil nous a toujours été réservé.

Il nous a fait l'honneur d'être notre juge, qu'il veuille bien croire à toute notre gratitude.

A MONSIEUR LE PROFESSEUR ANDRÉ DUFOURT

Qui a bien voulu faire partie de notre Jury, nous lui en sommes infiniment reconnaissant.

Nous le remercions ici de ses conseils et des sentiments de bienveillante sympathie qu'il nous a toujours témoignés.

A MONSIEUR LE DOCTEUR ANDRÉ JOSSERAND

Sous les directives duquel nous avons fait nos premiers pas en bactériologie. Il nous a inspiré le sujet de ce travail. Son dévouement inégalable et ses conseils avisés nous ont permis de mener à bien nos recherches.

Qu'il soit assuré de trouver ici l'expression de notre reconnaissance.

A MESSIEURS LES PROFESSEURS
DUCUING ET ANDRÉ CHALLIER

Grâce à la bienveillance desquels
nous avons pu nous orienter vers la
bactériologie.

Qu'ils trouvent ici l'expression de
nos sincères remerciements.

Nous tenons à remercier ici...

MONSIEUR LE PROFESSEUR RODET
ET MONSIEUR LE DOCTEUR HAUDUROY

...pour l'amabilité qu'ils nous ont té-
moignée et l'aide matérielle qu'ils
n'ont jamais hésité à nous donner au
cours de nos expériences.

A MES JUGES

A MES MAÎTRES DE LA FACULTÉ DE MÉDECINE
ET DE L'ÉCOLE DU SERVICE DE SANTÉ MILITAIRE

DU MEME AUTEUR (*en collaboration*) :

FERNAND ARLOING, A. JOSSERAND ET A. NABONNE :

Pouvoir antigénique chez le lapin de lysats de bacilles d'Eberth obtenus avec un Bactériophage approprié (*Soc. de Biol.*, Paris, Juillet 1930).

FERNAND ARLOING, A. JOSSERAND ET A. NABONNE :

Emploi d'un Bactériophage pour l'obtention d'un sérum antityphique (*Soc. de Biol.*, Paris, 30 Mai 1931).

Essai sur une Technique de Sérothérapie Antityphique

Pouvoir Antigénique des Lysats de Bacilles d'Eberth
obtenus par Bactériophagie

Introduction

Après les travaux les plus divers qui ont abordé la question de la sérothérapie antityphique, depuis une quarantaine d'années, il semble, à priori, bien hardi de tenter encore un nouvel essai. Cependant l'étude attentive de la question montre que cette longue série d'efforts n'a abouti qu'à une seule et même conclusion : l'extrême difficulté qu'il y a d'obtenir une bonne toxine capable de développer chez l'animal les anticorps nécessaires à l'immunisation de l'organisme d'un typhique.

Si parfois les résultats expérimentaux furent encourageants ils étaient, la plupart du temps, en désaccord avec les tentatives de sérothérapie clinique.

Dès 1903, BALTHAZARD, dans sa remarquable thèse, mise au point très complète de toutes les recherches antérieures, dégage deux ordres de faits restés encore vrais et qui nous semblent d'une importance capitale :

« Produits de sécrétion, produits de constitution, voilà l'ensemble des éléments contre lesquels l'orga-

nisme doit lutter dans l'intoxication typhique. Produits de sécrétion, voilà le seul élément contre lequel on a essayé d'immuniser l'organisme jusqu'à nos jours. »

Le premier, il agite donc la question : de là, multiplicité des antigènes. Ailleurs on lit encore :

« Il est essentiel de ne pas soumettre les bacilles à des manipulations physico-chimiques, capables de faire disparaître la partie la plus active de la toxine typhique. »

Par ailleurs, et en corrélation avec ces multiples tentatives de sérothérapie expérimentale ou clinique, M. le Professeur ARLOING voulut bien nous confier, il y a deux ans, l'étude du pouvoir antigénique chez le lapin, de lysats de bacilles d'Eberth obtenus par bactériophagie de ces cultures en bouillon ordinaire.

Les résultats obtenus (*Soc. de Biol.*, 19 juillet 1931) nous permirent d'espérer encore plus de cette tentative, puisque, d'un autre côté, les travaux parisiens de MM. REILLY, RIVALLIER et STEFANESCO (*Soc. de Biol.*, octobre 1930) sur le Para B. confirmèrent nos résultats. Du reste, une expérimentation ultérieure développa notre première recherche et permit de faire connaître (*Soc. de Biol.*, mai 1931) la confirmation de nos hypothèses, puisque nous avons obtenu un sérum protégeant le cobaye préparé avec une culture virulente d'Eberth intra-péritonéale.

C'est à la présentation de ce nouvel essai de sérothérapie que nous avons consacré ce travail, divisé en deux parties.

Dans la première, nous relatons, en une revue aussi

complète que possible, l'état actuel du problème de la sérothérapie antityphique. Dans la seconde, nous exposons nos recherches personnelles, avec leurs succès et leurs insuccès. Nous classons simplement les résultats, sans pouvoir trancher absolument une question trop complexe et qui exige une expérimentation relativement longue et délicate, qui ne nous a pas laissé le temps d'appliquer à la clinique les données du laboratoire.

PREMIÈRE PARTIE

La Sérothérapie Antityphique **Essais Expérimentaux et Cliniques**

Historique

Déjà quelques années avant la découverte de l'agent pathogène de la fièvre typhoïde, BRIEGER avait décelé dans les ganglions des malades un alcaloïde toxique pour les animaux.

A vrai dire, les recherches sur les propriétés du sérum des animaux immunisés débutent en 1892 et les essais de sérothérapie en 1898. Ces recherches s'orientèrent ultérieurement dans trois voies successives et totalement différentes que nous allons envisager.

PERIODE DE SEROTHERAPIE ANTIBACILLAIRE.

Jusqu'en 1897, c'est la phase initiale, avec SANARELLI, CHANTEMESSE et WIDAL. Tous les travaux reposent sur l'immunisation de cobayes par injection de bouillons de cultures virulents, âgés de 15 jours d'étuve à 37°, puis stérilisés ultérieurement à 100°. Résultat : sérum vaccinant et curateur ; immunité rapide, mais courte.

En même temps, CHANTEMESSE et WIDAL établissent que le sérum de l'homme, au déclin de la fièvre ty-

phoïde ou après guérison, est préventif et curateur contre l'infection eberthienne expérimentale. Travaux confirmés par STERN, BEUMER, PEIFER, KLEMPERER et LÉVY sur des animaux.

A côté de ces faits éclatants restaient à expliquer bien des insuccès. PFEIFFER et KOLLE, faisant table rase du passé, montrent, en 1897, que l'on avait fait fausse route. Les produits de bactériolyse in vivo du bacille d'Eberth, voilà l'élément à combattre. La théorie de l'endotoxine était née, et il en découlait que l'on devait s'efforcer d'obtenir dorénavant des sérums anti-endotoxiques.

PERIODE DE SEROTHERAPIE ANTI-ENDOTOXIQUE.

Jusqu'en 1898, malgré les nombreux essais successifs de CHANTEMESSE, BORGER, BOKENHAM, l'impossibilité d'obtenir un tel sérum restait à peu près admise.

WOLL, en 1904, arrivait aux conclusions suivantes :

1° *L'endotoxine typhique liée aux corps microbiens ne peut être mise en liberté que par désagrégation.*

2° *A l'encontre des toxines ordinaires, elle ne peut donner naissance à des anticorps, et ne fait apparaître chez les immunisés que des bactériolysines.*

3° *La recherche d'un sérum anti-endotoxique n'aboutira à rien (Zwecklos).*

Cependant, en 1903, CONRADI avait obtenu, par autolysat d'une culture de 20 heures filtrée puis évaporée dans le vide, un liquide réduit au 1/50^e, qui renfermait une toxine soluble. Deux centimètres cubes tuaient⁴ un cobaye de 300 grammes en 24 heures.

BRIEGER et MAYER, opérant d'une façon analogue, arrivaient à un résultat assez curieux : le sérum obtenu était simplement agglutinant.

Mac FEYDEN, ROWOLAND et CHANTEMESSE, à peu près en même temps, par des procédés physico-chimiques, obtenaient les toxines contenues dans le protoplasma bactérien :

Endotoxine très virulente, sérum fortement actif : voilà les résultats que vient confirmer BALTHAZARD, dans sa thèse, en 1905.

Plus tard, BESREDKA, en 1905, 1906, étudiant les endotoxines solubles en général, met au point un procédé d'obtention devenu classique :

Partant de jeunes cultures chauffées à 60° pendant une heure, puis délayées dans de l'eau physiologique à 75 % et desséchées ultérieurement dans le vide, il obtient une poudre microbienne qu'il triture dans un mortier avec du *Nacl* sec. Sans abandonner le pilon, il verse dans le mortier 1 à 2 centimètres cubes d'eau distillée par gramme de poudre microbienne. Il ramène ensuite cette purée à la concentration de l'eau physiologique. Les corps microbiens se déposent lentement. Le lendemain, on porte au bain-marie à 60-62° pendant deux heures. Douze heures de repos permettent une décantation qui présente en surface un liquide opalescent : c'est l'endotoxine en solution.

Toxicité très forte.

Obtention d'un sérum anti-endotoxique protégeant fortement l'animal préparé avec des doses considérables de bacilles.

On pouvait conclure alors :

1° *Que l'endotoxine peut être mise en liberté, même sans désagrégation proprement dite ;*

2° *Qu'elle donne naissance à des anticorps ;*

3° *Qu'on peut obtenir un sérum anti-endotoxique.*
(Turro, Oskar Bail, Meyer et Bergell, Sleewyck, Schwarz) confirmaient ces vues.

Cependant un grand nombre de chercheurs n'avaient pas abandonné l'hypothèse de l'exotoxine soluble, et, au moment où les partisans de l'endotoxine traversaient la phase de résultats négatifs, quelques succès leur donnaient bon espoir.

PERIODE DE SEROTHERAPIE ANTI-EXOTOXIQUE.

La simple filtration de cultures vivantes avait donné à LYONNET, CARRÉ et MEYRIEUX (1897) un produit toxique, mais faiblement immunisant.

Vint enfin la célèbre communication de CHANTEMESSE au Congrès de Madrid (1906) sur la typho-toxine soluble.

Elle provenait d'une culture très virulente en bouillon Martin d'un bacille jeune. Après six jours, une filtration sur porcelaine donnait la typho-toxine.

Essais d'immunisation favorables, résultats confirmés par RODET et ses élèves (ALY, WAHBY, LAGRIFFOUL, 1898-1904). Avec une aération large, les cultures sont abondantes et donnent des filtrats toxiques (au maximum le 3° jour). Toxicité à la dose du 1/400^e du poids du cobaye.

Ultérieurement, en 1904, M. et Mme WERNER concluent de leurs travaux sur la question que :

1° *Le bacille d'Eberth a besoin de milieux riches en O ; mais, d'autre part, l'O agit très vite sur la toxine qui, oxydée, perd toute activité, et cette dernière action prédomine ;*

2° *Même à l'abri de l'air, cette toxine est très instable ;*

3° *La chaleur est sans grande action sur elle ;*

4° *Des autotoxines (vieilles cultures) entravent la toxinogénèse.*

Les résultats de LAGRIFBOUL (1900) établissent la possibilité de l'immunisation par l'exotoxine typhique.

D'un autre côté, ARONSON, avec des corps microbiens desséchés dans le vide, obtient la toxine de propriétés sensiblement analogues à la toxine RODET ; il lui est donc permis de conclure :

« *Tout se passe comme si, pour le bacille de Loeffler, endo et exotoxine n'étaient qu'une seule et même toxine : produit de sécrétion du bacille ; l'exo étant probablement plus abondante que l'autre.* »

Quoi qu'il en soit, cette théorie simpliste est loin de la réalité, et bien des choses doivent exister dans ce qu'on appelle la toxine typhique.

C'est donc contre l'effet global de toutes ces substances que l'organisme devra lutter.

Et il semble bien que, dans ces dernières années, les auteurs se soient ralliés à cette hypothèse. Récemment, en 1931, REILLY, RIVALIER et STEFANESCO, en parlant d'une endotoxine préparée par la méthode de BESREDKA, obtenaient avec le Para B une toxine for-

tement active et un sérum anti-endotoxique protégeant très efficacement le cobaye.

De plus, des examens histologiques pratiqués en cours d'expérience montrèrent que les animaux traités avec le sérum étaient protégés des lésions profondes, caractéristiques de l'action de la toxine, malgré la pullulation des germes dans le sang.

C'était la confirmation, définitivement établie, des hypothèses formulées sur la toxémie typhique.

Nous allons passer à l'exposé proprement dit de notre travail sur la préparation essentiellement biologique d'un sérum anti-typhique à partir de cultures de bacilles d'Eberth bactériophagées.

DEUXIÈME PARTIE

Essais sur une Technique de Sérothérapie Antityphique Antiendotoxique et Antibacillaire

CHAPITRE PREMIER

La voie était donc toute tracée par nos prédécesseurs. Produits de constitution, produits de sécrétion, voilà les éléments à neutraliser ; sérum antiendotoxique et antibacillaire, voilà les moyens que nous allons chercher à fournir à l'organisme du typhique pour lutter contre l'agresseur.

Inspirés fidèlement des idées techniques de BALTHAZARD, nous avons donc à obtenir une endotoxine et un extrait bacillaire sans les avoir soumis à une manipulation physico-chimique susceptible de modifier leurs propriétés biologiques.

La bactériophagie du bacille d'Eberth, mieux que tout autre procédé, nous semblait particulièrement indiquée.

Le pouvoir lysogène d'un bactériophage adapté au bacille d'Eberth mettait donc à notre disposition, et cela d'un seul coup et d'une façon essentiellement biologique : une endotoxine ; un extrait bacillaire.

Par la suite, ces lysats, injectés à doses croissantes à des lapins, nous procurent un sérum dont l'étude sera développée tout au long dans ce travail.

Notre technique sera envisagée suivant le plan suivant :

- 1° Préparation des lysats ;
- 2° Préparation des animaux ;
- 3° Etude biologique du sérum.

Préparation des Lysats

LA CULTURE.

Diverses souches d'origines différentes provenant, soit d'une hémoculture positive, soit des matières fécales, soit de la collection du laboratoire, nous ser-virent constamment dans les recherches.

Ces cultures d'Eberth, typiques, étaient conservées virulentes par repiquage tous les deux ou trois jours sur gélose T. Milieu bien approprié qui donnaient des cultures abondantes en tubes inclinés au bout de 24 heures.

LE BACTERIOPHAGE.

De même que, pour la culture, les nombreux bactériographes, facilement identifiés, soit dans les eaux du Rhône, soit dans les selles d'un typhique défervescent, soit enfin au laboratoire, nous conduisirent à la sélection d'une souche particulièrement active, qui nous servit durant deux années.

LA LYSE.

Bien qu'actuellement en possession de tous les éléments nécessaires à la bactériophagie, il faut encore réunir bien des conditions pour obtenir l'apparition d'une lyse complète, telle que d'HÉRELLE l'a définie :

Comme l'ont décrit d'HÉRELLE, HAUDUROY et de multiples auteurs familiarisés avec la question, ce sont des détails techniques très complexes, qui font la difficulté pratique du problème.

En face d'un phénomène aussi variable que celui de la bactériophagie, en particulier pour l'Eberth, l'expérimentateur doit s'adapter aux bacilles et au bactériophage, chercher les conditions les plus favorables à la lyse, sans vouloir assouplir ces deux éléments aux conditions théoriques de la bactériophagie, essentiellement variables avec chaque souche microbienne. Personnellement, durant deux ans, malgré les passages successifs répétés méthodiquement toutes les 24 heures, les lyses obtenues furent parfois incomplètes.

Quoi qu'il en soit, notre méthode reposait sur des indications qui furent toujours respectées :

1° Opérer sur bacilles jeunes, au maximum âgés de 24 heures d'étuve à 37° obtenus sur gélose T. en tubes inclinés ;

2° Opérer la bactériophagie sur une suspension de bacilles, en bouillon ordinaire de P. H. = 7,6, et telle que le trouble obtenu corresponde à une concentration égale à $1 \times 10,7$ de bacilles au centimètre cube ;

3° Opérer toujours à température constante favorable à la souche microbienne.

Ce sont en somme les indications idéales résultant des travaux de D'HÉRELLE.

LE LYSAT.

Afin d'obtenir une bactériophagie complète, il est nécessaire d'accroître la virulence du bactériophage. Partant d'une bactériophagie incomplète et après filtration de cette dernière sur bougie CHAMBERLAND L. 3, obtient une suspension de bactériophage qui sert à inoculer une nouvelle suspension bacillaire. Ces passages successifs du bactériophage sur bacilles neufs et jeunes sont répétés jusqu'à obtention d'une lyse parfaite en six heures.

Dans ces conditions, que nous réalisâmes à une température de 27°, puis de 37° et même de 44°, suivant les souches, et après de nombreux passages, nous arrivions à avoir un lysat répondant à tous les desideratas.

Après filtration, ces derniers sont mis en ampoules, et une série d'ampoules fut soumise à une chauffe prolongée de 24 heures à 62°, afin de détruire le bactériophage et d'éviter ainsi, lors des inoculations aux lapins, les effets perturbateurs de l'introduction de l'ultra-virus à côté de l'effet des injections de lysat que nous recherchions. Une autre série ne subit pas de chauffe.

CHAPITRE II

Préparation des animaux

Le lysat ainsi obtenu fut inoculé à des lapins sérologiquement neutres, pesant de 2 à 3 kilogrammes. L'injection était pratiquée dans la veine marginale externe de l'oreille, tous les deux jours, à la dose de 1 cmc, 2, 3, 4 et 5 cmc à plusieurs reprises, suivant les animaux.

Huit jours après la dernière inoculation, saignée et essai du pouvoir agglutinant.

D'une façon générale, nous avons constaté que ces animaux semblaient soumis à une loi constante :

1° *La durée d'apparition des anticorps spécifiques, constatée par l'apparition d'une agglutination à un taux variant de 1/3.000 à 1/10.000, est sensiblement constante et égale à trois semaines.*

2° *La dose d'antigène n'influe pas sur le temps d'apparition des propriétés spécifiques du sérum ;*

3° *L'acquisition du pouvoir agglutinant n'était que temporaire, puisque 21 à 30 jours après la cessation des injections du lysat, une nouvelle saignée ne se montrait pas agglutinante.*

CHAPITRE III

Etude Biologique du Sérum

Quelque soit la série de lysats employée (lysat chauffé à 62° ou non chauffé), les sérums obtenus possèdent un ensemble de propriétés communes que nous allons examiner.

AGGLUTINATION.

L'apparition de la propriété agglutinative se manifeste au bout du 12^e jour chez l'animal en préparation et évolue suivant une courbe régulièrement ascendante, pour atteindre, après 21 jours de traitement, un taux variant entre 1/3000 et 1/10.000, suivant les animaux.

Ce pouvoir agglutinant n'est que temporaire, puisque 30 jours après la fin du traitement, toute propriété agglutinative du sérum a disparu. Cette propriété est spécifique du bacille d'Eberth ; les bacilles du groupe paratyphique et le coli ne sont pas agglutinés,

BACTERIOLYSE.

L'épreuve bactériolytique pratiquée avec la souche qui servit à la fabrication du lysat, bien qu'assez longue à se déclencher, nous permet de vérifier cependant, au bout d'une heure, des transformations granuleuses des bacilles, suivie d'une déformation irrégulière de leurs contours, puis finalement une dissolution. Par ailleurs, les colorants sont mal pris et les bacilles laissent distinguer difficilement leurs contours.

PRECIPITATION.

Le sérum obtenu, mis à des doses minimum par 1/10^e de cmc. en présence d'un excès de toxine (lysate), ne donne aucun phénomène appréciable. Le phénomène, répété avec des doses inverses, ne donne également absolument rien.

A priori, toutes ces constatations ne sont point surprenantes, puisque *grosso modo* on injecte au lapin le filtrat d'une culture de 6 à 12 heures, après une inoculation massive correspondant à la concentration bacillaire égale à : 1×10^7 .

Le phénomène de la bactériophagie entraîne-t-il au sein du bouillon l'apparition de produits nouveaux, et toutes les phases du processus de préparation du sérum lui sont-elles redevables ?

Toute la question est là. Dans ce sens, nous avons préparé des lapins avec le filtrat d'une culture pure,

filtrat obtenu dans les mêmes conditions de température et de milieu que le lysat précédent. Des injections ultérieures, suivant le rythme pratiqué sur les lapins qui recevaient les lysats, ne donnaient en fin d'expérience aucun résultat comparable.

Le sérum de ces lapins était toujours sérologiquement neutre.

Il faut donc admettre que le lysat de bacilles d'Eberth par bactériophagie donne naissance, au sein du bouillon, à des substances nouvelles douées d'un pouvoir antigénique tel, qu'après injection au lapin on obtient un sérum doué de propriétés spécifiques envisagées précédemment.

ACTION PREVENTIVE.

L'action thérapeutiques expérimentale fut éprouvée, à deux reprises différentes, avec le même sérum et à l'aide de la souche bacillaire initiale qui servit à préparer les lysats.

L'essai expérimental eut lieu sur plusieurs lots de cobayes d'un poids variant entre 200 et 300 grammes.

Les bacilles d'Eberth employés provenaient de cultures âgées de 24 heures sur gélose T en tubes inclinés. Le produit de raclage de chaque tube étant émulsionné dans 4 cmc. de sérum à 9/1.000, les essais de toxicité montrèrent que 2 cmc. par voie intrapéritonéale tuaient un cobaye de 250 grammes en 24 heures. Ce délai se réduit d'ailleurs à 6 heures environ si la dose injectée est portée à 4 cmc.

Notre expérience a compris quatre lots de cobayes pesant de 200 à 300 grammes.

Premier lot. — Deux cobayes témoins qui reçurent chacun 4 cmc. de culture par voie intrapéritonéale. Ils moururent : l'un en 6 heures (250 gr.), l'autre en 10 heures (310 gr. après l'injection.

Deuxième lot. — Trois cobayes qui reçurent simultanément 4 cc. de culture comme précédemment et, en outre, une injection sous-cutanée de 1 cmc. de sérum de lapin préparé. Parmi ces animaux :

Un survécut (200 grammes) ;

Deux autres succombèrent : l'un en 20 heures 15, (390 gr.), l'autre en 24 heures (420 gr.).

Troisième lot. — Deux cobayes reçurent l'injection de 1 cmc. de sérum une heure, et deux autres cobayes trois heures après l'injection des 4 cmc. de culture.

Tous les cobayes survécurent (tous avaient un poids supérieur à 280 gr.).

Il y avait donc des succès. Toutefois, il est à remarquer que, parmi les cobayes traités, les plus gros animaux furent les moins résistants, comme si la dose protectrice de sérum, soit de 1 cmc., efficace pour un poids de 250 grammes, devenait insuffisante au delà.

D'ailleurs, une seconde voie d'expériences confirma cette hypothèse. L'injection de sérum, proportionnelle au poids de chacun des cobayes, en prenant comme base la dose de 1 cmc. correspondant à 250 grames de cobaye, se montra nettement plus active.

D'autre part, nous avons noté ce fait que les injections de sérum et de culture, pratiquées simulta-

nément, protègent beaucoup moins les animaux que si un intervalle de une heure, ou mieux de trois heures, répare les deux injections, l'injection de bacilles étant la première évidemment.

Peut-être le sérum, de diffusion très rapide et d'élimination non moins accélérée, ne peut-il agir qu'en rencontrant dans l'organisme une quantité déjà notable de toxine à neutraliser.

En outre, des examens histologiques pratiqués sur la glande hépatique des animaux en expérience montrèrent de profondes différences au point de vue des lésions comparées chez les témoins et chez les cobayes traités par le sérum.

Alors que l'hépithélium hépatique des témoins montre de larges zones de dégénérescence hyaline localisées à la périphérie des espaces de Kiernan, les mêmes régions, bien qu'atteintes, sont mieux respectées chez les cobayes traités et ayant succombé.

En ce qui concerne les survivants, l'examen des coupes apporte une confirmation du pouvoir protecteur du sérum, puisqu'on ne décèle aucune lésion caractéristique dans les régions qui se montrent particulièrement sensibles à la toxine typhique.

Ce fait est d'autant plus intéressant à noter que l'hémoculture du sang des cobayes survivants, pratiquée avant le prélèvement de la glande hépatique, se montre toujours positive, ainsi que la culture de la bile intravésiculaire.

Conclusions

I. — La sérothérapie antityphique, après une période purement expérimentale, s'est orientée d'abord dans le sens d'un sérum antimicrobien, puis vers des sérums antitoxiques spécifiques, en vue de la lutte contre l'endotoxine et l'exotoxine typhiques.

II. — Aujourd'hui, à ces trois types de sérums tend à se substituer un sérum antitoxique valable pour l'ensemble des poisons typhiques. Mais peut-être le facteur antiendotoxique est-il un peu négligé dans les sérums actuels, la libération d'endotoxine par lyse microbienne paraissant jouer un rôle de premier plan dans l'intoxication typhique. Du reste, la valeur de ces sérums prête encore beaucoup à discussion sur le terrain de la clinique et met souvent en désaccord l'expérimentation et la thérapeutique de l'infection humaine. D'où la nécessité d'obtenir un sérum plus constant dans ces effets et à la fois antiendotoxique et antiexotoxique.

III. — C'est dans le but d'obtenir un sérum surtout anti-endotoxique que nous avons pensé à réaliser la lyse des corps microbiens par un bactériophage approprié.

Les caractéristiques du sérum que nous avons obtenues sont les suivantes :

1° *In vitro*, il donne une agglutination du bacille d'Eberth à des taux variant de 1/5.000 à 1/10.000, et présente une bactériolyse très nette, sans donner de phénomènes de précipitation ;

2° *In vivo*, il possède un pouvoir curateur évident,

non seulement lors d'une inoculation massive intrapéritonéale du bacille d'Eberth, mais même protège le cobaye contre la septicémie éberthienne ultérieure.

3° Dans nos expériences, la dose protectrice du sérum variait du 1/4.000 au 1/45.000. Outre cela, il est à remarquer que l'intégrité histologique de l'hépithélium hépatique est conservée ;

4° L'emploi, comme antigène, de lysats de corps microbiens par un bactériophage approprié semble donc permettre d'obtenir un sérum antiendotoxique s'opposant à l'atteinte viscérale, malgré la pullulation des germes pathogènes dans le sang ;

5° L'association d'un tel sérum à un sérum anti-exotoxique permettrait peut-être d'améliorer les résultats de la sérothérapie antityphique ;

6° D'un point de vue purement biologique, l'efficacité comme antigène du lysat de bacilles d'Eberth par un bactériophage approprié, a l'intérêt de souligner ce fait que la désintégration des corps microbiens n'est pas poussée à un degré tel que toute spécificité en soit abolie.

LE PRÉSIDENT DE LA THÈSE,

Vu :

F. ARLOING

LE DOYEN,

Jean LEPINE.

Vu et permis d'imprimer :

Lyon, le 5 Novembre 1931.

LE RECTEUR, PRÉSIDENT DU CONSEIL DE L'UNIVERSITÉ,

Pour le Recteur et par délégation :

LE VICE-PRÉSIDENT DU CONSEIL DE L'UNIVERSITÉ,

V. GRIGNARD

Bibliographie

TRAVAUX PUBLIES SUR LA QUESTION

« BACTERIOPHAGIE ET BACILLE D'EBERTH » (1)

ARNOLD ET WEISS. — Isolation free from bactériol proteins
(*J. infect. dis.* Nov. 1925, p. 411).

BACHMANN ET WOHLFEIL. — Metabolism of bactériophage of
bacillus coli (*Centralbl. f. Bakt.* Abt I, Bd. 104, 1927,
p. 256).

BAIL. — Bactériophage wirkungen gegen flexner und kolibac-
térien (*Wien Klin Woch.*, 15 sept. p. 417, T. XXXIV).

BONNEL. — Essai de bactériothérapie dans les affections ty-
phoïdes (*Soc de pathologie comparée*, 10 juil. 1928).

— Essai de bactériothérapie dans les affections typhoï-
des (*Journ. des Prat.* n° 33, 18 août, 1928, p. 1.739).

BREINI ET HODER. — Bactériophagie dans le groupe des B.
paratyphiques (*Centralbl. f. Bakt.* T. IVC, p. 1, 1925).

CAMUS. — Applications thérapeutiques du Bactériophage
(*Thèse de Paris*, 1926).

COURCOUX ET HAUDUROY. — Hémocultures passagèrement po-
sitives dans la fièvre typhoïde (*Soc. méd. Hôp.*, 1925).

DALSACE. — Le bactériophage de d'Hérelle, ses applications
en thérapeutique urinaire (*Thèse*, Paris, 1925).

(1) Pour toutes les publications antérieures à 1925, nous
renvoyons à l'excellente bibliographie de la THÈSE DE SEMPE,
Lyon, 1925.

- HÉRELLE ET HAUDUROY. — Sur les caractères des symbioses (Bactérie, bactériophage) (*Société biol.* T. VIIC, 21 novemb., 1925, p. 1.288).
- DIMITZA. — Changes in coli strains through bactériophage action in vivo and in vitro (*Centralbl. f. Bakt. Abt. 1*, T. CI, 3 janv., 1927, p. 171).
- GJORUP. — Investigation into d'Hérelles Phenomen (*Habilitationsschr.* Kopenhagen, 1925).
- GOZANY ET SURANGI. — Expériences de réductions avec le bactériophage (*Centralbl. f. Bakt. abt. Y.* 95, 1925).
- HAUDUROY. — Présence de formes invisibles de microbes visibles dans nature (*Soc. Biol.*, 30 janv., 1926, p. 246).
- Présence de formes microbiennes filtrantes dans les selles des convalescents de fièvre typhoïde (*Soc. de Biol.*, 13 mars 1926, p. 660).
- Présence de formes filtrantes du bacille d'Eberth dans le sang d'un typhique (*Soc. de biol.*, 26 juin 1926, p. 288).
- JENSEN. — Periodicité d'action du bactériophage (*zeits. f. Hyg.* Bd. 105, 1925, p. 271)
- Action périodique du colibacille (*zeit. f. Immunitol.* Bd. 46, 1926, p. 59).
- Typhoid colon group. bactériophage (*Centralbl. f. Bakt. Abt I* ; T. CVII, 18 avril 1928, p. 1).
- LÉVY. — Bactériophage en 5 cases of typhoid fever without résultats (*Arch. de med. cir. y esper.*, 5 février 1927, p. 186).
- MAJOR. — Typhoid colon group. bactériophage effect on bacterio coli in cow (*Arch. f. Hyg.*, 1927, p. 193).
- MARSHALL. — Observations on d'Hérelle bactériophage (*J. Infect. dis.*, août, 1925, p. 126).
- MARNIER (L.) ET GRYZEZ (V.). — Nouvelle préparation par cataphorèse d'un bactériophage approprié (*Soc. Biol.* T. CVII, page 317).
- NELSON. — Typhoid colon group bactériophage (*J. exp. Med.*, oct. 1927, p. 549).

- SONNENSCHIN. — Uebere paratyphus bactériophagen und anti-phagine (*II Tag d. deuts. Verein f. Mirkob.*, sept. 1925).
- SCHWARTZMANN. — Bacillus coli and bactériophage phénomène (*Centralbl. f. Bakt. Abt. I, T. CI*, p. 62, 7 déc, 1926).
- SEPET. — La bactériothérapie dans les fièvres typhoïdes (*Rev. med. de France* 1925, in *Paris-Médical*, 20 mars 1926).
- TORLEY, WILSON ET LEWIS. — The rôle of twort d'Hérelle phénomène in épidemis of mouse typhoïde (*J. of Hyg. T. XXIV*, juil. 1925, p. 17).

SEROTHERAPIE DE LA FIEVRE TYPHOIDE

DEPUIS 1910

- ARLOING (F.), JOSSEMAND (A.) ET NABONNE (A.). — Pouvoir antigénique chez le lapin des lysats de bacilles d'Eberth obtenus avec un bactériophage approprié (*Soc. Biol.*, 19 juillet 1930, Paris).
- ARLOING (F.), JOSSEMAND (A.) ET NABONNE (A.). — Emploi du bactériophage pour l'obtention d'un sérum anti-typhique (*Soc. Biol.*, 30 mai 1931, Paris).
- BERTHOYE ET ETIENNE-MARTIN (P.). — Le sérum de Rodet dans le traitement de la fièvre typhoïde des enfants. Résultat obtenu pendant l'épidémie 1928-29 (*Lyon médical* n° 23, 9 juin 1929, p. 723).
- Le sérum de Rodet dans le traitement de la fièvre typhoïde des enfants. Résultat obtenu pendant l'épidémie 1928-1929 (*Journal de médecine de Paris*, n° 35, 29 août 1929, page 742).

(1) Jusqu'en 1910, consulter THÈSE Paul BERNARD, Lyon 1910.

- BOHAIN. — Guérison rapide de fièvre typhoïde par le sérum d'un sujet convalescent (*Journal des Praticiens* 1921, p. 760).
- BUENA VENTURA. — Sérum antityphique polyvalent (*Repert. de méd. y cir.* Bayoto 1921, p. 374).
- BURTADO. — Sérum de Rodet (*Revue de méd. y cirug.* Caracos 1923-1924, np. 124).
- CARRET. — Fièvre typhoïde et sérothérapie (*Rev. méd. de l'Est*, 1923, p. 425).
- CAVAZZUTI (A.). — La siérotérapie e la vaccinoterapia nelle febbre tifoïde (Policlinico XXXII ,sez. prat.), 1925, p. 1.485).
- CORRET. — Fièvre typhoïde et sérothérapie (*Rev. méd. de l'Est*, n° 13, 1^{er} juillet 1923).
- COZERTA. — Sérum mantityphique (Policlinico, 1924, p. 543).
- DAMADE. — Le traitement de la fièvre typhoïde par le sérum de Rodet (*Journal de médecine* de Bordeaux, 10 juillet 1930).
- ETIENNE. — Sérothérapie antityphique (*Paris médical* 1921, p. 225).
- Résultats pratiques de la sérothérapie dans la fièvre typhoïde (*Revue médicale de l'Est*, T. II, LI, n° 13, 1^{er} juillet 1923).
- ETIENNE, DROUET ET GERBAUT. — Sur la sérothérapie de la fièvre typhoïde (*Revue médicale de l'Est*, LVIII, 1930, p. 465).
- FÉLIX. — Sérologie et sérothérapie de la fièvre typhoïde (*Bull. d. sc. méd.* di Bologna, 1924, p. 113).
- FINCK ET PERRIN. — Sérothérapie antityphoïdique (*Nord Médical*, 15 novembre 1930).
- GRASSET (E.) — Concentrated antityphoid serum as specific in treatment of typhoid fevers (*J. M. A. South Africa* 4 : 380 — 85, 12 July 1930).
- GROSJEAN. — Observation d'un cas de fièvre typhoïde par le sérum de Rodet (*Revue médicale de l'Est*, 1923, p. 443).

- GRYSEZ (V.), GERNEZ (Ch.) ET M^{lle} DUBERNARD. — Production d'anticorps. Apparition et persistante d'un bactériophage antityphique dans les selles chez l'homme à la suite d'injections intraveineuses d'un bactériophage antityphique purifié préparé par cataphorèse (*Soc. Biol.* T. CVII, page 318).
- HILGERMANN. — Séro et chimiothérapie de la fièvre typhoïde (*Münch. Medizinische Wochenschrift*, 1926, p. 520).
- HOWARD. — Sérum antityphique (*Adad. de médecine* 1920, p. 147).
- JANSION. — La sérothérapie par le sérum des convalescents (*Soc. de médecine militaire française*, 1922, p. 13).
- LAGRIPPANT. — Sérothérapie de la fièvre typhoïde (*Thèse Montpellier*, 1900).
- LAMBERT ET CELLEULS. — Fièvre typhoïde et sérothérapie (*Société de médecins militaire française*, 1923, p. 145).
- LE BLAYE. — Sérothérapie de la fièvre typhoïde (*Société méd. des Hôp.*, 1921, p. 115).
- LE BLAYE. — Traitement spécifique de la fièvre typhoïde (*Bull. soc. de médecine de la Vienne*, 1924, p. 87).
- LANGEVIN ET GALLAMEDEC. — Typhoïde et sérum de Rodet (*Arch. méd. chir. de Province*, 1922, p. 257).
- LEENHARDT, CHAPTAL ET BALMES. — Le traitement de la fièvre typhoïde par le sérum de Rodet (*Arch. de la soc. des ac. méd. et de Biol. de Montpellier et du Languedoc méditerranéen*, février 1929, p. 189).
- MARTIN (Jean-Marie). — Le traitement de la fièvre typhoïde par le sérum de Rodet (*Thèse Montpellier*, 1929, 1930).
- MARTIN (J.). — Le traitement de la fièvre typhoïde par le sérum de Rodet (*Thèse* 1929, Emmanuel Montane, Montpellier).
- PERAHIA. — Traitement de la fièvre typhoïde par le sérum de Rodet (*Thèse Toulouse*, 1915).
- PERRIN ET FINCK. — A propos de la sérothérapie antityphoïdique de Rodet (*Société de médecine de Nancy*, Séance du 26 mars 1930).

PIC (M.). — A propos du sérum antityphoïdique du Professeur Rodet (*Lyon Médical*, 21 avril 1929, p. 495).

REILLY, RIVALIER ET STÉFANESCO. — Action d'un Sérum anti-endotoxique sur la septicémie expérimentale déterminée par le bacille palatyphique B. (*Soc. de Biol.* T. C, V, page 371).

PIRERA. — Séro et vaccinothérapie de la fièvre typhoïde (*Gazz. Médicale napolit.*, 1921, p. 269).

RAVAULT. — Le sérum de Rodet à hautes doses dans le traitement de la fièvre typhoïde de l'adulte (*Soc. méd. des Hôp.* de Lyon, séance du 5 mars 1929).

RAVAUT (P.) ET MODRIN. — Le sérum de Rodet à hautes doses dans le traitement de la fièvre typhoïde de l'adulte (*Soc. méd. des hôp.* de Lyon, 12 mars 1929).

RODET. — Fièvre typhoïde et sérothérapie (*Congrès de médecine*, octobre 1910).

— 65 cas de traitement précoce de fièvre typhoïde (*Presse Médicale*, décembre 1910).

— Sérothérapie de la fièvre typhoïde (*Lyon médical*, 5 mars 1911).

— Fièvre typhoïde et sérothérapie (*Lyon médical*, 12 mars 1911).

— Sérothérapie antityphique (*Soc. méd. des hôp.*, 20 décembre 1912).

— Sérothérapie de la fièvre typhoïde (*Province médicale* 25 janvier 1913).

— Etat actuel de la sérothérapie antityphique (*Prov. médicale*, décembre 1913).

— Sérothérapie de la fièvre typhoïde (*Gaz. des Hôp.*, 6 janvier 1914).

— Variations des propriétés du sérum antityphique (*Soc. de Biol.*, 1921, p. 739).

— Variations des propriétés du sérum antityphique (*Montpellier médical*, 1921, p. 121).

— Sérothérapie de la fièvre typhoïde (*Clinique*, 1923, p. 148).

- Cinq années de sérothérapie de la fièvre typhoïde. Influence du sérum sur l'évolution de la maladie (*Journal Médical*, Lyon, 5 novembre 1925).
- RODET (A.). — Conditions d'efficacité de la sérothérapie de la fièvre typhoïde (*Lyon Médical*, n° 51, 16 décembre 1928, p. 718).
- A propos de la sérothérapie de la fièvre typhoïde (*Paris médical* n° 30, 27 juillet 1929, page 81).
- A propos de la sérothérapie de la fièvre typhoïde (*Lyon Médical* n° 40-6, octobre 1929, LXI^e année, Tome CXLIV, p. 385).
- A propos de la sérothérapie de la fièvre typhoïde (*Lyon Médical*, 13 octobre 1929, n° 41, Tome CXLIV, p. 417).
- RODET. — Sérum et sérothérapie antityphoïdique (XX^e Congrès français de Médecine, Montpellier, 16-17 octobre 1929).
- RODET ET BONNAMDEU. — Traitement sérothérapique de la fièvre typhoïde (*Med. Press.*, 1921, p. 518).
- SONDAG. — Données récentes sur le traitement spécifique de la fièvre typhoïde et sur l'action de choc dans cette maladie (*Marseille médical*, 1926, LXIII, p. 53-63).
- VERGELEX. — Quelques observations sur l'emploi du sérum de Rodet dans la fièvre typhoïde (*Journal de médecine* de Bordeaux, 10 janvier 1930, p. 7).
-

Table des Matières

	Pages
INTRODUCTION	11
PREMIERE PARTIE.	
<i>La Sérothérapie antityphique. — Essais expérimentaux et cliniques</i>	15
Historique	17
DEUXIEME PARTIE.	
<i>Essais sur une Technique de Sérothérapie Antityphique, Antiendotoxique et Antibacillaire</i> ...	23
CHAPITRE PREMIER	25
Préparation des Lysats	26
CHAPITRE II.	
Préparation des animaux.....	29
CHAPITRE III.	
Etude Biologique de Sérum	31
CONCLUSIONS	37
BIBLIOGRAPHIE	39

